

京都大学	博士（薬科学）	氏名	吉村 優志
論文題目	アミロイドーシスの早期診断を目的とした核医学分子イメージングプローブの開発に関する研究		
<p>アミロイドーシスはタンパク質のミスフォールディングによって形成されるβシート構造を有するアミロイド線維が特定の臓器に蓄積することで機能障害が惹起される疾患の総称である。アルツハイマー病 (AD) および2型糖尿病 (T2DM) は、いずれもアミロイドーシスの代表的な疾患であり、ADにおいては脳内にβアミロイドタンパク質 ($A\beta$) を主成分とする老人斑、T2DMにおいては膵臓内にアミリンを主成分とする膵島アミロイドが臨床症状の出現前から沈着が始まっていることが報告されていることから、これらのアミロイドの検出はそれぞれADおよびT2DMの早期診断に有効であると考えられる。一方、核医学イメージング法は、核医学分子イメージングプローブを体内に投与することで、そのプローブが相互作用する生体内分子の分布を単光子放出断層撮像 (SPECT) やポジトロン断層撮像 (PET) により、体外から特異的かつ高感度にイメージングできる手法である。</p> <p>そこで、本研究では、老人斑および膵島アミロイドの非侵襲的な生体イメージングの方法を構築するため、$A\beta$ およびアミリンを標的にした核医学分子イメージングプローブの開発を計画した。</p> <p>第1章 アルツハイマー病の早期診断を目的とした脳内βアミロイド標的核医学分子イメージングプローブの開発</p> <p>現在までに、Florbetapirをはじめ、いくつかの^{18}F標識$A\beta$イメージングプローブが開発され、臨床応用されているが、これらのプローブはいずれも脳白質への高い非特異的集積が問題となっている。そこで、脳白質への集積には化合物の母核が関連していると考え、既存の$A\beta$イメージングプローブとは異なる母核をもつ6種類のフェニルキノキサリン (PQ) 誘導体 ($[^{18}\text{F}]\text{PQ-1}\sim 6$) を設計した。$A\beta$凝集体を用いた競合阻害実験において、今回検討した化合物の中でPQ-6の親和性が最も高く、Florbetapirよりも10倍以上高い親和性を示した。また、$[^{18}\text{F}]\text{PQ-6}$はAD患者脳組織切片を用いた<i>in vitro</i>オートラジオグラフィ (ARG) において、老人斑を明瞭に描出し、脳白質への非特異的結合は認められなかった。さらに、正常マウスでの体内放射能分布実験において、いずれのPQ誘導体も投与早期での脳への高い移行性とその後の脳からの消失を示した。以上の結果から、今回検討した化合物の中で良好な結合性と脳内挙動を示した$[^{18}\text{F}]\text{PQ-6}$について、アミロイド斑を過剰産生する遺伝子改変マウスでの<i>ex vivo</i> ARGを行った結果、脳内アミロイド斑への結合性を認め、本化合物が既存$A\beta$イメージングプローブよりも良好な性能を有することが示唆された。</p> <p>第2章 2型糖尿病の早期診断を目的とした膵臓内アミリン標的核医学分子イメージングプローブの開発</p> <p>第1節 単光子放出断層撮像用アミリンイメージングプローブとしてのピリジルベ</p>			

ンゾフラン誘導体の開発

膵島アミロイドは老人斑と同様に β シート構造から構成されるため、 $A\beta$ イメージングプローブは膵島アミロイドへの結合性を有する可能性がある。そこで、まず、膵島アミロイドの染色試薬であるチオフラビンTと類似した母核を有し、 $A\beta$ への優れた結合性を示すことが報告されているピリジルベンゾフラン(PBF)誘導体である $[^{125}I]$ IPBFのアミリンへの結合性を評価した。アミリン凝集体を用いた*in vitro*結合飽和実験および結合阻害実験において $[^{125}I]$ IPBFは高い結合親和性を示した。さらに、 $[^{125}I]$ IPBFはT2DM患者膵臓組織切片中のアミリンへの結合性を示した。この結果に基づいて、臨床的汎用性の高い放射性核種である ^{99m}Tc を標識核種とした2つのPBF誘導体($[^{99m}Tc]$ TPBF-1 \sim 2)を設計した。アミリン凝集体を用いた*in vitro*結合性評価において、 $[^{99m}Tc]$ TPBF-1は $[^{99m}Tc]$ TPBF-2よりも高い結合性を示した。また、T2DM患者膵臓組織切片を用いた*in vitro* ARGにおいて、 $[^{99m}Tc]$ TPBF-1はアミリンを明瞭に描出した。さらに、膵臓内にアミリン凝集体を移植したモデルマウスを用いて*ex vivo* ARGを行った結果、 $[^{99m}Tc]$ TPBF-1は移植したアミリンへの集積を示した。以上の結果より、 $[^{99m}Tc]$ TPBF-1がSPECT用アミリンイメージングプローブとしての基礎的性質を有することを認めた。

第2節 ポジトロン断層撮像用アミリンイメージングプローブとしてのフェノキシメチルピリジン誘導体の開発

前節において、PBF誘導体はアミリンへの優れた結合性を有するものの、高い脂溶性、および、錯体部位の特性に起因すると考えられる肝臓への高い集積性を示すことを認めた。肝臓は膵臓の近傍に位置することから、肝臓への集積は膵島アミロイドの生体イメージングにおいて問題となる。そこで、PBFに比べて水溶性の向上が期待できるフェノキシメチルピリジン(PMP)を母核として選択し、水溶性リンカーを介して ^{18}F を導入した6種類のPMP誘導体($[^{18}F]$ FPMP-1 \sim 6)を設計した。合成した全てのPMP誘導体において、T2DM患者膵臓組織切片中の膵島アミロイドへの結合性を認めた。また、正常マウスを用いた体内放射能分布実験において、いずれの化合物もPBF誘導体に比べて肝臓への集積を低減させることに成功した。さらに、検討した6種類のPMP誘導体の中で最も良好な性質を示した $[^{18}F]$ FPMP-5について、ヒトアミリン発現遺伝子改変マウスを用いた*ex vivo* ARGを行った結果、膵臓中のアミリン凝集体への結合性を認めた。以上の結果より、 $[^{18}F]$ FPMP-5はPET用アミリンイメージングプローブとして有効であることを見出した。

以上、本研究はAD脳内 $A\beta$ およびT2DM膵臓内アミリンを標的とした核医学イメージングに有効な分子プローブの開発に成果を収めたものであり、ADおよびT2DMの早期診断および治療薬開発に有益な情報を提供するものと考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、アミロイドーシスの代表的な疾患であるアルツハイマー病(AD)および2型糖尿病(T2DM)を対象に、それぞれADでの脳内 β アミロイドタンパク質(β)凝集体、T2DMにおいては膵島アミリン凝集体というアミロイドの検出を可能とする核医学分子イメージングプローブの開発を計画したものである。

β イメージングプローブの開発においては、フェニルキノキサリン誘導体を合成し、検討した結果、 β への高い親和性を示す化合物を得た。さらに、その化合物について、 β 結合の特異性、体内動態、特に脳内挙動などを検討した結果、本化合物が既存 β イメージングプローブよりも良好な性能を有することを見出した。

また、膵島アミロイドイメージングプローブの開発においては、その染色試薬であるチオフラビンTと類似した母核を有し、 β への優れた結合性を示すことが報告されているピリジルベンゾフラン(PBF)誘導体を母核とする放射性ヨウ素標識化合物を合成し、その高いアミリン結合親和性を見出した。さらに、その結果を基に、臨床的汎用性の高い放射性核種 ^{99m}Tc の錯体を設計、合成し、その化合物がアミリン凝集体への結合親和性、インビボでの膵島アミリン凝集体への集積性を示すことを認めたが、同時に体内動態において錯体部位の特性に起因すると考えられる肝臓への高い集積性を示すことも認めた。そこで、高い肝臓集積性を改善するために、PBFに比べて水溶性の向上が期待できるフェノキシメチルピリジン(PMP)を母核として選択し、水溶性リンカーを介して ^{18}F を導入したPMP誘導体 ^{18}F FPMP-5を設計、合成し、本化合物がインビトロ、インビボ実験で膵島アミリン凝集体への親和性を示すこと、また ^{99m}Tc 錯体よりも肝臓への放射能集積が低減することを認め、 ^{18}F FPMP-5がアミリンイメージングプローブとして有効であることを見出した。

以上、本研究はAD脳内 β およびT2DM膵臓内アミリンを標的とした核医学イメージングに有効な分子プローブの開発に成果を収めたものであり、ADおよびT2DMの早期診断および治療薬開発に有益な情報を提供するものと評価される。

よって、本論文は博士(薬科学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成29年2月20日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当分の間当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。